枯草芽孢杆菌高效制备 Tp-GUS 的系统构建与应用

张正晖　刘护　李春*

北京理工大学生命学院生物工程系，lichun@bit.edu.cn

甘草酸（Glycyrrhizin，GL）是甘草最主要的有效成分之一，具有抗肿瘤、抗病毒、抗过敏、抗炎、及促进肾上腺皮激素等功能，在食品添加剂和化妆品领域也有广泛的应用，是一种重要的精细化工产品[1,2]。其分子中含有两个葡萄糖醛酸基使得其极性较强，导致其难以有效透过细胞膜并进一步在细胞内发挥药理作用，故甘草酸并非是其发挥最佳药理作用的最佳分子形态[3,4]。甘草酸的衍生物如单葡萄糖醛酸基甘草次酸（Glycyrrhetinic acid monoglucuronide，GAMG）和甘草次酸（Glycyrrhetinic acid，GA）分别为甘草酸经水解外侧的一个、两个葡萄糖醛酸基团的 β-1,2 糖苷键得到的产物。其中 GAMG 比 GA 缺少一个葡萄糖醛酸基团，极性中等，使得其在体内的溶解能力以及跨膜转运的能力得到很大提高，因此 GAMG 比 GL 和 GA 具有更高效的吸收率和利用度[5]。

课题组前期筛选出一种新型、特异性转化甘草酸生产单葡萄糖醛酸基甘草次酸的嗜松篮状菌（*Talaromyces pinophilum*）的 *β*-葡萄糖醛酸苷酶（TpGUS）。基于 TpGUS 广泛的商用和医用价值，以及课题组前期的一系列研究工作，本课题将以有优异分泌性能的枯草芽孢杆菌为对象，通过建立启动子和信号肽文库，并通过酶的定向进化，实现对酶基因的随机诱变，以期提高和改善酶的性能性质，为其投入工业化生产提供理论依据。最后通过酶学性质的表征，优化酶分子的酶学反应活性。

通过一系列的基因分子操作，以期能大规模的生产 TpGUS，避免 TpGUS 在发酵过程中存在的在酿酒酵母中产率低、发酵周期长和生产成本高的瓶颈问题，对其未来的工业化应用有很重要的意义。

参考文献：

[1]Cantarel BL, Coutinho PM, Rancurel C, Bernard T, Lombard V, Henrissat B. The Carbohydrate-Active En Zymes database (CAZy): an expert resource for glycogenomics[J]. Nucleic acids research. 2009, 37(suppl 1):D233-D238.
[2]Tomatsu S, Montaño AM, Dung VC, Grubb JH, Sly WS. Mutations and polymorphisms in GUSB gene in mucopolysaccharidosis VII (Sly Syndrome)[J]. Human Mutation. 2009, 30(4):511-519.
[3]Kaleem I, Huang S, Bo L, et al. Chemical Engineering Science, 2014, 106:136-143.
[4]Bo Lü, Xiaogang Yang, Xudong Feng,Chun Li.Chinese Journal of Chemical Engineering,2016,24(4):506-512.
[5]Li L U, Yang Z, YU H, et al. Preparation of glycyrrhetinic acid monoglucuronide by selective hydrolysis of glycyrrhizic acid via biotransformation[J]. Chinese Herbal Medicines, 2012, 4(4): 324-328.

作者简况：张正晖（1993-），硕士研究生，研究方向为生物催化与酶工程。E-mail：zzhui093@163.com。*通信作者：李春，教授，主要从事生物催化与酶工程方面的研究。E-mail:lichun@bit.edu.cn。